

氏名（本籍）	藪 下 晴津子（岡山県）
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	乙 第353号
学位授与年月日	平成25年10月8日
学位授与の条件	学位規則第4条第2項該当者
学位論文の題名	ヒト膵管腺がんモデルラットのオミクス解析に関する研究
論文審査委員	主査 古川 昭栄 副査 足立 哲夫 副査 原 英彰

## 論文内容の要旨

毎年、日本では約 20,000 人、米国では約 30,000 人が膵がん罹患しており、膵がんは日米ともにがんの死亡原因の第 5 位である。膵がんの 95% は膵管が腫瘍化した膵管腺がん (PDAC) と診断される。膵がんの診断は非常に難しいため進行がんで見つかることが多く、5 年生存率は 5% 未満である。膵がんのバイオマーカーとして臨床的に CA19-9 が広く用いられている。CA19-9 は膵がんにおいて大量に作られ血清中に増加する糖鎖抗原である。しかし、特異性に問題があり、感度も悪く、膵がんの早期診断には適当でない。そのため、特異性と感度に優れた新規バイオマーカーを早急に確立することが期待される。

近年の分析技術の発達に伴い、タンパク、生体反応における代謝産物および RNA (mRNA やタンパクをコードしない micro RNA (miRNA) 等) などの生体内物質の網羅的解析が可能となった。これらはそれぞれプロテオミクス解析、メタボロミクス解析およびトランスクリプトミクス解析と呼ばれ、これらを合わせてオミクス解析と呼ばれる。

本研究では、導入されたヒトがん遺伝子 Ras の発現が Cre/lox システムによって制御されるヒト PDAC モデルラット (Hras250 PDAC ラットおよび Kras301 PDAC ラット) から採取した膵組織および血清についてプロテオミクス解析、miRNA 解析、およびメタボロミクス・トランスクリプトミクス解析を行った。

プロテオミクス解析では、Hras250 PDAC ラットの膵がん組織において発現が増加したタンパク 30 個を同定した。30 個のタンパクのうち 21 個のヒトホモログタンパクは、ヒトの膵がん組織における発現増加が報告されており、Hras250 PDAC ラットおよびヒトの膵がん組織でのタンパク発現プロファイルが類似していることがわかった。

miRNA 解析では、膵がん患者の血漿において発現が増加することが報告されている 4 個の miRNA のうち、3 個の miRNA が Kras301 PDAC ラットの血清においても発現が増加していた。したがって、Kras301 PDAC ラットと膵がん患者の血中 miRNA の発現プロファイルが類似してことがわかった。また、Kras301 PDAC ラットの血清において miR-375 の発現低下、miR-369-5p、miR-376a および miR-203 の発現増加が認められた。

メタボロミクス解析では、Kras301 PDAC ラットの血清において palmitoleic acid 量の低下が認められた。トランスクリプトミクス解析では、Kras301 PDAC ラットの膵がん組織における嫌氣的解糖系およびヌクレオチド代謝に関わる遺伝子の mRNA の発現増加、TCA 回路に関わる遺伝子の mRNA の発現低下が認められた。加えて、脂肪酸代謝に関連する遺伝子の mRNA 発現の変化 (Acly 遺伝子では発現低下、Fasn 遺伝子では発現増加)、アラキドン酸代謝に関連する Alox5ap 遺伝子の mRNA の発現増加が認められた。メタボロミクス解析とトランスクリプトミクス解析の統合は、膵がん進展における各種経路に関連した代謝システムの理解に役立つ。

これら一連の解析により、ヒト PDAC モデルラットがヒト PDAC の新規バイオマーカー候補の探索に有用であることが証明された。実際に、本研究において miR-375、miR-369-5p、miR-376a、miR-203 および palmitoleic acid がヒト PDAC の血中における新規バイオマーカー候補として見出された。今後、これら新規バイオマーカー候補の実用性を、ヒトの血液サンプルを用いて検証する必要がある。

## 論文審査の結果の要旨

膵がんの診断は難しく、5 年生存率は 5% 未満であるが、適切なバイオマーカーが確立されていないことが一因である。本論文は新たに確立した膵管腺がんモデルを用い、診断に有用なバイオマーカーをオミクス解析した成績をまとめたものである。

ラットに導入したヒトがん遺伝子 Ras (H-ras あるいは K-ras) の発現を Cre/lox システムによって制御し、膵管腺がんを誘導した。H-ras を導入したモデルでは、膵がん組織において発現増加するタンパク 30 種を同定し、うち 21 種がヒト膵がん組織においても発現増加することから、本モデルの有用性を明らかにした。K-ras を導入したモデルでは、膵がん患者で発現増加する 4 種の miRNA のうちの 3 種が増加することを確認し、他にも発現変動を示す miRNA を同定した。さらに、血清 palmitoleic acid の低下、嫌氣的解糖系およびヌクレオチド代謝にかかわる遺伝子の mRNA 発現の増強、TCA 回路にかかわる遺伝子 mRNA 発現の低下を認めた。また、脂肪酸代謝にかかわる遺伝子発現にも変動を認めた。

以上の成績は、本ラット膵管腺がんモデルがヒト膵がんの診断バイオマーカーの検索に有用であることを示すとともに、いくつかの新たなバイオマーカー候補も見出しており、博士 (薬学) 論文として価値あるものと認める。